

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-292990

(43)Date of publication of application : 09.11.1993

(51)Int.Cl.

C12P 21/00  
 B01D 63/02  
 C12M 3/06  
 C12N 9/00  
 // C12N 5/10  
 (C12P 21/00  
 C12R 1:91 )

(21)Application number : 04-117972

(71)Applicant : TABAI ESPEC CORP

(22)Date of filing : 09.04.1992

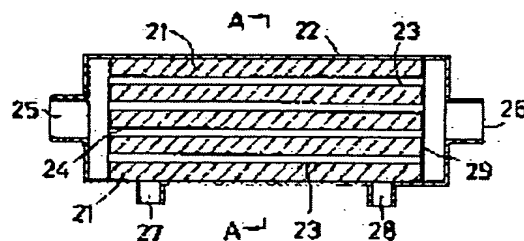
(72)Inventor : SHIMOIZU HIDETAKA  
 ETO NOBUYUKI

## (54) PRODUCTION OF SUBSTANCE AND CELL CULTURE VESSEL THEREFOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To perform the expression of a desired gene introduced from a virus by culturing a cell infected with a virus in a cell-growing space formed with a porous polymer membrane impermeable to cells and viruses.

CONSTITUTION: A cell is infected with a virus having desired gene in a cell-growing space 21 formed with a porous polymer membrane 23 impermeable to cells and viruses. The infected cell is cultured with nutrient, proliferation factor and gas supplied from a space 24 for supplying nutrient, etc., and the expressed desired substance is recovered.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 05.04.1994

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 10.12.1996

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision]

of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-292990

(43)公開日 平成5年(1993)11月9日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 P 21/00	C	8214-4B		
B 0 1 D 63/02		6953-4D		
C 1 2 M 3/06		7236-4B	C 1 2 N 5/ 00	B
		8931-4B	15/ 00	A

審査請求 未請求 請求項の数5(全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平4-117972

(22)出願日 平成4年(1992)4月9日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成3年10月10日  
社団法人日本醸酵工学会発行の「平成3年度 日本醸酵  
工学大会講演要旨集」に発表

(71)出願人 000108797

タバイエスベック株式会社  
大阪府大阪市北区天神橋3丁目5番6号

(72)発明者 下伊豆 英貴

大阪府大阪市北区天神橋3丁目5番6号  
タバイエスベック株式会社内

(72)発明者 江藤 伸幸

大阪府大阪市北区天神橋3丁目5番6号  
タバイエスベック株式会社内

(74)代理人 弁理士 細田 芳徳

(54)【発明の名称】 物質の生産方法および該方法に用いる細胞培養器

(57)【要約】

【構成】少なくとも細胞およびウィルスに対して透過性を有しない部材により形成された細胞生育空間であって、該部材の一部が栄養物、増殖因子、ガスに対しては透過性を有する多孔性ポリマーの膜よりなる細胞生育空間と、該多孔性ポリマーの膜を介して該細胞生育空間に隣接する栄養物・増殖因子・ガス通過空間を備えた細胞培養器を用いて、細胞を所望の遺伝子を有するウィルスに該細胞生育空間内で感染させ、該細胞を培養して所望の遺伝子を発現させ、発現された所望の物質を回収することよりなる物質の生産方法、および該方法に用いる細胞培養器。

【効果】ウィルスの細胞培養器外部への拡散がなく、また細胞培養器内でのコンタミネーションの恐れがないので、目的とする物質の生産を安全かつ有効に行うことが可能である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも細胞およびウイルスに対して透過性を有しない部材により形成された細胞生育空間であって、該部材の一部が栄養物、増殖因子、ガスに対しては透過性を有する多孔性ポリマーの膜よりなる細胞生育空間と、該多孔性ポリマーの膜を介して該細胞生育空間に隣接する栄養物・増殖因子・ガス通過空間を備えた細胞培養器を用いて、細胞を所望の遺伝子を有するウイルスに該細胞生育空間内で感染させ、栄養物・増殖因子・ガス通過空間より供給される栄養物、増殖因子、ガスにより該細胞を培養して所望の遺伝子を発現させ、次いで発現された所望の物質を回収することを特徴とする物質の生産方法。

【請求項2】 多孔性ポリマーの膜がホローファイバーである請求項1記載の生産方法。

【請求項3】 細胞が昆虫細胞である請求項1記載の生産方法。

【請求項4】 開閉調節が可能な開口部を有する細胞培養器であって、ウイルスの共存下に細胞を培養する細胞生育空間と該空間に隣接する栄養物・増殖因子・ガス通過空間を仕切る多孔性ポリマーの膜を該細胞培養器内に備え、該栄養物・増殖因子・ガス通過空間に存在する栄養物、増殖因子、ガスを該細胞生育空間に供給可能とすると共に、該細胞生育空間内に存在する細胞およびウイルスを培養中に該細胞生育空間外に排出させないことを可能とした細胞培養器。

【請求項5】 多孔性ポリマーの膜がホローファイバーである請求項4記載の細胞培養器。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、物質の生産方法および該方法に用いる細胞培養器に関する。更に詳しくは、昆虫細胞等に由来する細胞を所望の遺伝子を挿入したウイルスに感染させると共に、該ウイルスおよび細胞を細胞培養器外に排出させることなく感染した細胞を培養増殖し、該培養物中にウイルスより導入された所望の遺伝子を発現させ、所望の物質を回収することよりなる物質の生産方法、および該方法に用いる細胞培養器に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術・発明が解決しようとする課題】 従来、生体内で微量に生産される酵素、生理活性物質等の所望の物質を大量生産する方法の1つとして、遺伝子組み換え技術により所望の物質をコードする遺伝子をウイルスのDNA内に挿入した後、培養による増殖が容易な細胞にウイルスを感染させた後、感染細胞を培養により増殖させて、培養物中に目的とする所望の物質を発現させ、該物質を回収する方法が知られている。

【0003】 即ち、培養細胞として昆虫細胞を選択する場合、例えば核多角体病ウイルス、昆虫ボックスウィル

ス、虹色ウイルス、濃核病ウイルス、細胞質多角体病ウイルス、麻痺病ウイルス、ノダウイルス等のウイルスのDNA内に目的とする所望の物質をコードする外来遺伝子を挿入した後、SIE-MSH-805、BM-N、Sf-9、Sf-21等の昆虫細胞を前述のウイルスに感染させ、細胞培養の際に通常用いられるペトリディッシュ（シャーレ）、T型フラスコ、スピナーフラスコ、ローラボトルまたはタンク型培養器等の細胞培養器内で感染した細胞を培養することにより、該感染細胞の増殖が行われている。この際、細胞を培養して生育し増殖させるためには、水分、無機塩、アミノ酸、グルコースおよびビタミン等の栄養物、増殖因子および酸素や二酸化炭素等のガスを供給すると共に、培養中の細胞より排出されたガスや老廃物の除去を適宜行うことが必要となる。

【0004】 このような栄養物およびガスの供給にあたっては、培養細胞に対するコンタミネーションの防止、すなわち培養細胞とは異なる他の細胞やウイルス、細菌、マイコプラズマ等の微生物が細胞培養器中に侵入することを培養目的である細胞の培養を制御する点から防止する必要がある。また、培養中の細胞より排出されたガスや老廃物の除去にあたっては、ウイルスに感染された細胞やウイルスがガスや老廃物と共に細胞培養器外に排出され外部に拡散することにより生産設備および実験室がウイルスにより汚染されることを防止する必要がある。特に生産設備のウイルスによる汚染は、環境汚染の問題ひいては生産機能の破壊にかかわることから、非常に大きな問題となっている。

【0005】 従来、前記の問題を解決するための対策としては、細胞培養器の開閉部分や隙間にエアフィルター、メンブレン等を取りつけることによって、これを介して栄養物およびガスを供給し、またガスや老廃物の除去を行っていた。しかしながら、エアフィルター、メンブレンの孔の大きさに比して、通常、この手法の培養に用いるウイルスは非常に微細であり、その構造・性質上エアフィルター、メンブレンの孔を通過し得るのであったため、生産設備のウイルスによる汚染の恐れの問題が常に指摘されており、この問題の解決が当業界で要請されていたものの未だ有効な解決手段は見出されていないのが実情である。

【0006】 従って、本発明の目的は、細胞培養器内のウイルスが培養器外部に拡散することによる生産設備の汚染の心配がなく、また培養空間への外部からの微生物等によるコンタミネーションを防止できる細胞培養器を用いて細胞を培養し、ウイルスより導入された所望の遺伝子を発現させ、所望の物質を回収することよりなる物質の生産方法を提供することにある。本発明の他の目的は、該方法に用いる細胞培養器を提供することにある。

## 【0007】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、前記の課

題を解決するために鋭意検討した。その結果、細胞培養器内に細胞およびウィルスに対して透過性を有しない大きさの細孔を有する多孔性ポリマーの膜を備えることによって、生産設備がウィルスにより汚染されることを有効に防止できる細胞培養の方法を見だし、本発明を完成するに至った。

【0008】即ち、本発明の要旨は、(1)少なくとも細胞およびウィルスに対して透過性を有しない部材により形成された細胞生育空間であって、該部材の一部が栄養物、増殖因子、ガスに対しては透過性を有する多孔性ポリマーの膜よりなる細胞生育空間と、該多孔性ポリマーの膜を介して該細胞生育空間に隣接する栄養物・増殖因子・ガス通過空間を備えた細胞培養器を用いて、細胞を所望の遺伝子を有するウィルスに該細胞生育空間内で感染させ、栄養物・増殖因子・ガス通過空間より供給される栄養物、増殖因子、ガスにより該細胞を培養して所望の遺伝子を発現させ、次いで発現された所望の物質を回収することを特徴とする物質の生産方法、および

(2) 開閉調節が可能な開口部を有する細胞培養器であって、ウィルスの共存下に細胞を培養する細胞生育空間と該空間に隣接する栄養物・増殖因子・ガス通過空間を仕切る多孔性ポリマーの膜を該細胞培養器内に備え、該栄養物・増殖因子・ガス通過空間に存在する栄養物、増殖因子、ガスを該細胞生育空間に供給可能とすると共に、該細胞生育空間内に存在する細胞およびウィルスを培養中に該細胞生育空間外に排出させないことを可能とした細胞培養器に関する。

【0009】本発明で用いられる細胞としては、ウィルスに感染した後、培養による増殖が容易なものであれば特に限定されるものではなく、例えばSIE-MSH-805、BM-N、Sf-9およびSf-21等の昆虫由来の細胞が挙げられる。

【0010】本発明で用いられるウィルスの種類は、これを感染させる細胞の種類にあわせて適宜選択し得るものであって、特に限定されるものではないが、外来遺伝子を容易に挿入できるもの、または既にその遺伝子中に目的の物質の遺伝子配列をもつものが好ましい。例えば昆虫由来の細胞を選択する場合であれば、核多角体病ウィルス、昆虫ボックスウィルス、虹色ウィルス、濃核病ウィルス、細胞質多角体病ウィルス、麻痺病ウィルスおよびノダウィルス等が好ましいウィルスとして挙げられる。

【0011】本発明において所望の遺伝子を発現させるための細胞の培養には、従来より使用されている通常の細胞培養器内に本発明における多孔性ポリマーの膜を設けて行うことができ、細胞培養器の種類・形状等に何ら限定されるものではない。即ち、例えば、従来の透析膜、限外濾過膜、精密濾過膜等の膜を用いることが可能な細胞培養器や培養袋、またはホローファイバー等の膜型リアクターであって、栄養物およびガス等の供給のた

めの開閉可能な開口部を持つ容器を本発明における細胞培養器用の容器として用いることができる。本発明においては、これらの容器内に前記の透析膜、限外濾過膜、精密濾過膜等の膜の代わりに、本発明における多孔性ポリマーの膜を用いて使用することができる。

【0012】本発明でいう多孔性ポリマーの膜とは、栄養物、増殖因子およびガスに対しては透過性を有するが、本発明で用いられる細胞およびウィルスに対しては透過性を有しない大きさの細孔を有する膜であれば特に制限はなく、感染に用いるウィルスの大きさにより適宜選択される。即ち、これらのウィルスは通常20nm程度から数100nm程度の大きさであるため、これらの大きさを考慮して多孔性ポリマーの孔の大きさを適宜選択すればよい。例えば、ウィルスの大きさが20nmより少し大きい程度であれば、20nm程度の孔を有する多孔性ポリマーを使用することができ、この程度の孔径があれば栄養物、増殖因子およびガスを多孔性ポリマーの膜に接液させて透過させるのに支障はないため問題なく使用することができる。このような多孔性ポリマーとして、例えばポリサルホン、キュプロファン、セルロースアセテート等が挙げられる。膜の厚さは通常5μm～200μm程度で好ましくは20μm程度である。なお、前記多孔性ポリマーの膜は単層であっても、また複数に積層したものであってもよい。

【0013】本発明における多孔性ポリマーの膜は、通常、細胞生育空間と該空間に隣接する栄養物・増殖因子・ガス通過空間を仕切る部分に設けられ、栄養物・増殖因子・ガス通過空間から細胞生育空間へは栄養物、増殖因子およびガスを該多孔性ポリマーの膜に接液させ、この膜を介して供給することができるが、細胞生育空間から栄養物・増殖因子・ガス通過空間へは培養中に細胞およびウィルスが拡散することができないようこれを防止するという役割を有している。また、細胞生育空間において培養中の細胞より排出されるガスや老廃物は、多孔性ポリマーの膜を通過して細胞生育空間から栄養物・増殖因子・ガス通過空間に排出させるという役割をも有している。

【0014】本発明でいう細胞生育空間とは、ウィルスの共存下に細胞を培養するための空間をいい、少なくとも細胞およびウィルスに対して透過性を有しない部材により形成された空間であって、該部材の一部が栄養物、増殖因子およびガスに対しては透過性を有する前記の多孔性ポリマーの膜よりなるものをいう。また、栄養物・増殖因子・ガス通過空間とは、栄養物、増殖因子およびガスを該多孔性ポリマーの膜を介して細胞生育空間内に供給するための空間をいい、多孔性ポリマーの膜を介して細胞生育空間に隣接して設けられる空間をいう。なお、本発明で供給されるガスは、通常、液状の栄養物中に溶解した状態で用いられる。

【0015】次に、本発明の細胞培養器について、図面

を用いて説明する。図1は本発明の細胞培養器を配設した培養装置の概略構成図である。細胞の培養に必要な栄養物、増殖因子およびガスは栄養物・増殖因子・ガス供給部から細胞培養器内に必要に応じて供給される。培養中の細胞より排出された老廃物および不要なガスは、細胞培養器外に排出される。培養する細胞および感染に用いるウィルスは、細胞・ウィルス供給部より細胞培養器に供給される。

【0016】本発明において用いられる細胞培養器内の構造は、例えば図2の断面側面概略図（図3はそのA-A線断面概略図）に示されるものを挙げることができる。即ち、多孔性ポリマーの膜としてホローファイバーを用いたホローファイバーカートリッジを充填した細胞培養器であり、ウィルスおよび細胞は開閉自在な開口部27、28から細胞生育空間21に挿入される。栄養物・増殖因子・ガス通過空間24はホローファイバー23を介して細胞生育空間21と隣接しており、開閉自在な開口部25より栄養物、増殖因子およびガスが供給される。即ち開口部25は図1で示した栄養物・増殖因子・ガス供給部と連結しており、必要に応じて栄養物・増殖因子・ガスが栄養物・増殖因子・ガス供給部から細胞培養器内の栄養物・増殖因子・ガス通過空間24に供給される。この例では、細胞生育空間21は一部をホローファイバー23により、他は細胞培養器の外壁22およびホローファイバーカートリッジの端部29により囲まれている。細胞培養器の外壁22は、特に制限はないが、通常ポリカーボネート等の材質よりなり、ウィルスおよび細胞に対して透過性を有しないものである。また、細胞培養器の外壁22の材質を例えば、ウィルスや栄養物は通過できないが、酸素や二酸化炭素等のガスの通過が可能な程度の細孔をもつ、有機・無機ポリマー等を用いることにより、ガスのみを細胞培養器の容器内外に通過できるようにしてもよい。また、前記のホローファイバーカートリッジの端部29は通常エポキシ樹脂、ウレタン樹脂等の材質により形成されており、同様にウィルスおよび細胞に対して透過性を有しないものである。従って、細胞生育空間21に挿入されたウィルスおよび細胞は、培養中に細胞生育空間21より外部に排出する恐れのない空間である。

【0017】本発明の細胞培養器としては、多孔性ポリマーの膜として前記のようなホローファイバーを用いる代わりに、多孔性の平膜を用いてもよい。図4および図5にその例として平膜を用いた細胞培養器の断面側面概略図を示す。即ち、図4は、細胞培養器の上段に細胞生育空間45を設け、平膜47を介して下段に栄養物・増殖因子・ガス通過空間48を設けた例である。この場合、細胞およびウィルスは開閉自在な開口部41または42より細胞生育空間45内に挿入され、栄養物、増殖因子およびガスは開閉自在な開口部43または44より栄養物・増殖因子・ガス通過空間48へ供給される。図

5は、細胞培養器の中間部分に細胞生育空間59を設け、平膜58を介して上段と下段に栄養物・増殖因子・ガス通過空間57、60を設けた例である。細胞およびウィルスは図4の場合と同様に開口部53または54より挿入され、栄養物、増殖因子およびガスは開口部51または52、開口部55または56より供給される。このように本発明において多孔性ポリマーの膜を配設するには種々の態様が可能であり、特にこれらに限定されるものではない。

【0018】このような細胞培養器を用いた本発明の生産方法について、図2を用いて以下に説明する。まず遺伝子組み換え等の公知の方法により所望の物質をコードする遺伝子をウィルスのDNA内に挿入する。次に得られたウィルスを培養する細胞と共に細胞・ウィルス供給部に供給し、さらに細胞・ウィルス供給部に連結した前記開口部27または28より細胞培養器中の細胞生育空間21内に細胞およびウィルスを挿入する。挿入後は開口部は閉じられ、細胞、ウィルスの外部への排出が防止される。この場合、細胞のみを先に栄養物、増殖因子、ガスと共に細胞生育空間21内に挿入し、予め培養増殖させ、細胞数が所定数に達した時点でウィルスを細胞生育空間21内に加えて感染させる方法を用いてもよい。なお、前記細胞培養器は、通常用いられる培養装置の回路内に予め接続される。このような培養装置としては、例えば、栄養物タンクやガス交換器等よりなる栄養物・増殖因子・ガス供給部、送液ポンプ（または循環ポンプ）、送液チューブ、pHセンサー、DOセンサー、および老廃物の回収用タンク等を有する回路などを使用することができる。培養装置を稼働させて、栄養物・増殖因子・ガス供給部に連結した細胞培養器の前記開口部25より栄養物・増殖因子・ガス通過空間24に栄養物、増殖因子およびガスが供給され、多孔性ポリマーの膜（この例ではホローファイバー23）を介して栄養物、増殖因子およびガス等が細胞生育空間内の細胞に供給され、これにより細胞の培養増殖が行われる。栄養物・増殖因子・ガス通過空間への栄養物、増殖因子およびガスの供給、および細胞生育空間から栄養物・増殖因子・ガス通過空間への不要なガスおよび老廃物の排出・除去等は、通常の細胞培養の場合と同様に細胞培養器と連結した送液チューブ等を通じて行うことができ、培養装置内のpHセンサー、DOセンサー等により培養状態を管理しながら細胞の培養増殖が行われる。

【0019】前記の培養により得られる増殖後の細胞は、ウィルスより導入された遺伝子を発現するので、例えばクロマトグラフィー、電気泳動等の通常の方法を用いることにより、所望の物質を容易に回収することができる。

【0020】

【作用】細胞・ウィルス供給部より細胞培養器中の細胞生育空間に細胞および所望の物質の遺伝子を有するウィ

ルスを挿入するとともに、栄養物・増殖因子・ガス供給部より細胞培養器中の栄養物・増殖因子・ガス通過空間に栄養物、増殖因子およびガスを供給する。栄養物、増殖因子およびガス等が多孔性ポリマーの膜を介して隣接する細胞生育空間内の細胞に供給されることにより細胞の培養増殖が行われる。増殖後の細胞は、ウィルスより導入された遺伝子を発現する。本発明の方法においては、多孔性ポリマーの膜は細胞、ウィルスの透過性を有しないものを用いるため、培養中にウィルスが細胞培養器の外部に拡散することはない。

#### 【0021】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例等によりなんら限定されるものではない。

#### 実施例1

$\beta$ -ガラクトシダーゼの遺伝子を有する Sf-21 細胞の培養による  $\beta$ -ガラクトシダーゼの生産

図1～図3の概略構成図に示される、多孔性ポリマーの膜としてホローファイバーを用いた細胞培養器を配設した培養装置を用いて、前記培養装置の滅菌および洗浄を行った後、細胞培養器の開口部27および開口部28より、昆虫細胞としてヨトウガ由来の *Spodoptera frugiperda* 細胞21（以下、Sf-21細胞）の  $4 \times 10^6$  個を pH 6.4 の条件にて細胞培養器内の細胞生育空間に播種し、同開口部より IPL-41 に血清を 10% 添加した培養液を添加し、培養装置を稼働させて前記細胞の培養を開始した。酸素センサーおよび pH センサーにより、回路内の酸素の消費量および pH 値を指標として前記細胞の増殖を行ない、酸素消費速度が一定を示した状態となった時に  $\beta$ -ガラクトシダーゼの遺伝子を組み込んだバキュロウィルスを開口部27および開口部28より培養器内の細胞生育空間に挿入し、前記細胞を感染させた。感染78時間後に培養を終了し、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を調べた。なお、培養期間は感染後も含めて550時間であった。培養終了後の最終細胞数は  $1.26 \times 10^9$  個細胞であり、うち生細胞は  $9 \times 10^8$  個細胞であった。細胞密度は  $2 \times 10^7$  個生細胞/ml であり、高密度に増殖したことが示された。培養期間中は酸素消費速度、細胞の増殖（観察）および pH の値を指標として細胞培養器の開口部25より水分、無機塩、アミノ酸、グルコースおよびビタミン等よりなる栄養物、増殖因子およびガスを細胞培養器中の栄養物・増殖因子・ガス通過空間に供給した。

【0022】培養終了後に、細胞生育空間内の培養液および細胞をとりだして、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を SDS-PAGE により確認したところ、細胞内および細胞外それぞれで  $\beta$ -ガラクトシダーゼのバンドが確認

された。また、全培養細胞がバキュロウィルスに感染したか否かを、細胞数測定時に ONPG に対する反応で調べたところ、全細胞で感染が確認された。次に、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの活性をミラーらの方法（"Experiments in Molecular Biology" pp352-355 (1972) Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York）に従って測定を行った。その結果、細胞外で 2,200,000 ユニット、細胞内で 3,920,000 ユニット、トータルで 6,120,000 ユニットの活性が得られた。この結果より、本発明の方法が Sf-21 細胞における高密度培養手法の一つとして有用であり、昆虫細胞等の細胞による物質生産に利用できることが判明した。なお、バキュロウィルスの細胞培養器外への排出による汚染は認められなかった。

#### 【0023】

【発明の効果】本発明により、ウィルスが細胞培養器外部に拡散されて生産設備が汚染されることのない、また、細胞が細胞培養器内でコンタミネーションを起こす恐れのない細胞培養が可能となり、目的とする物質の生産を安全かつ有効に行うことが可能となった。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の細胞培養器を配設した培養装置の概略構成図である。

【図2】本発明の細胞培養器の1例を示す断面側面概略図である。

【図3】図2に示される本発明の細胞培養器の A-A 線断面概略図である。

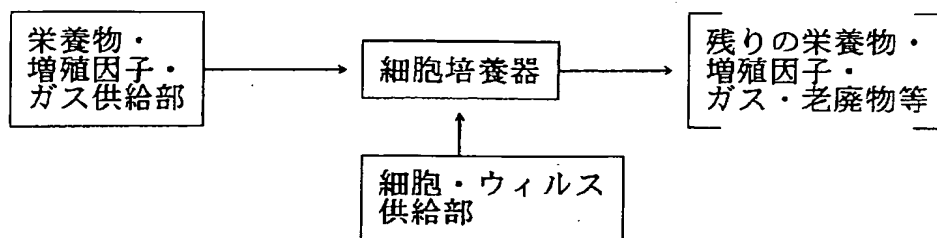
【図4】本発明の細胞培養器の1例を示す断面側面概略図である。

【図5】本発明の細胞培養器の1例を示す断面側面概略図である。

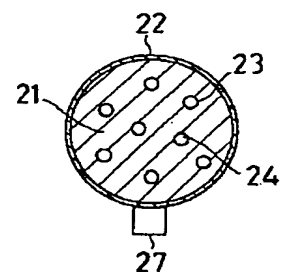
#### 【符号の説明】

- 21 細胞生育空間
- 22 外壁
- 23 ホローファイバー
- 24 栄養物・増殖因子・ガス通過空間
- 29 ホローファイバーカートリッジの端部
- 45 細胞生育空間
- 46 外壁
- 47 平膜
- 48 栄養物・増殖因子・ガス通過空間
- 57 栄養物・増殖因子・ガス通過空間
- 58 平膜
- 59 細胞生育空間
- 60 栄養物・増殖因子・ガス通過空間
- 61 外壁

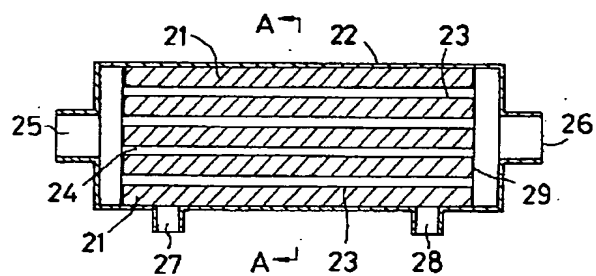
【図 1】



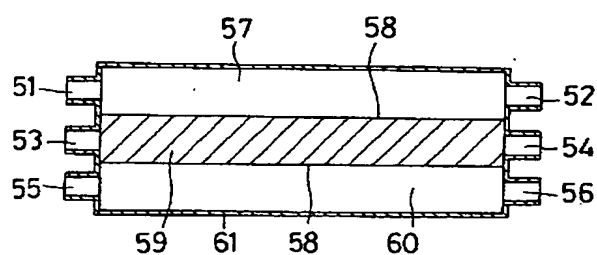
【図 3】



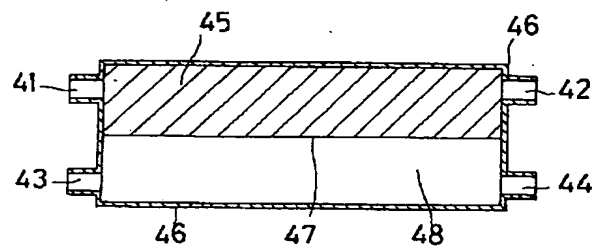
【図 2】



【図 5】



【図 4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 5

C 1 2 N 9/00

// C 1 2 N 5/10

(C 1 2 P 21/00

C 1 2 R 1:91)

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

7823-4B